2 วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

งานวิจัยนี้แบ่งออกเป็น 2 ตอน คือการผลิตเยื่อเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ *Acetobactor xylinum* เพื่อศึกษาคุณลักษณะที่เหมาะสม และขั้นตอนที่สองได้ทำการเคลือบสารละลายไคโตแซนลงบนเยื่อฐานเซลลูโลส การทดลองในขั้นตอนแรก ได้เขียนรายงานและสรุปเป็นเอกสารเพื่อการตีพิมพ์ ในวารสารสงขลานครินทร์ฉบับ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีเมมเบรน ดังแนบ รายงานนี้จึงกล่าวถึงการดำเนินงานในส่วนที่สอง ดังต่อไปนี้

2.1 การเตรียมเยื่อประกอบเซลลูโลส/ไคโตแซน

แบ่งการศึกษาเป็น 2 ขั้นตอน

2.1.1 การเตรียมสารละลายไคโตแซน

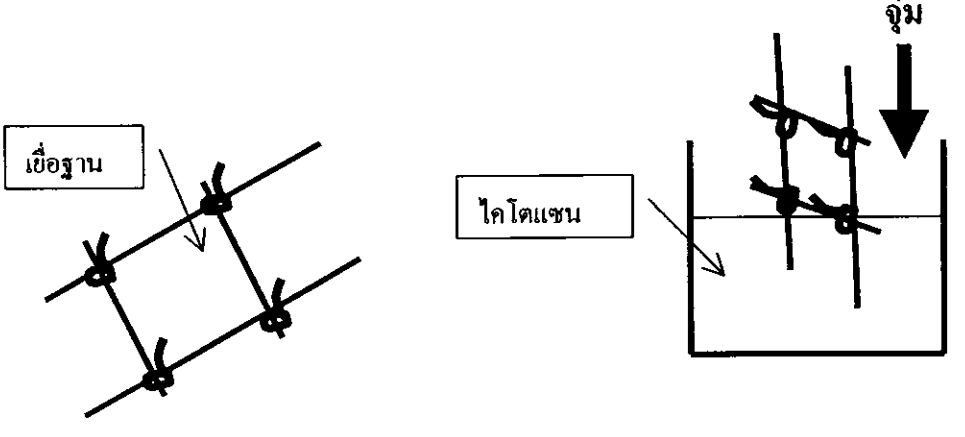
จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าปริมาณไคโตแซนที่เพิ่มขึ้นจะเป็นปัจจัยทำให้สารละลายที่ได้มีความหนืดสูงขึ้นด้วย จึงทดลองใช้ความเข้มข้นของไคโตแซน 3 ระดับ คือ 0.5% 1% และ 2% โดยละลายเกล็ดไคโตแซน (Fluka, M.W. 600,000) ลงในกรดอะซิติดเข้มข้น 1% ในอัตราส่วน 0.5:100 w/v 1:100 w/v และ 2:100 w/v ตามลำดับ เมื่อละลายดีแล้ว นำสารละลายที่ได้ไปกรองส่วนที่ละเอียดอื่นๆที่ไม่สามารถละลายในกรดได้ ปล่อยสารละลายทิ้งไว้ในที่ปลอดฝุ่นเพื่อคอยการใช้งาน

2.1.2 การเคลือบสารละลายไคโตซานลงบนเยื่อฐานเซลลูโลส

ในเบื้องต้นการเคลือบไคโตแซนลงบนเยื่อฐาน ได้ทดลองทั้ง 4 วิธี คือ วิธีจุ่ม วิธีรีด (Slip casting) วิธีอาศัยแรงโน้มถ่วง และวิธีอัดด้วยความดัน

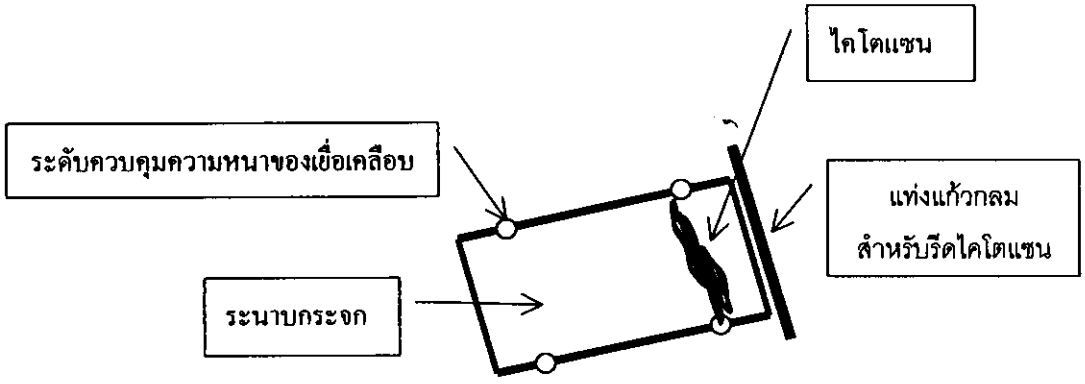
2.1.2.1 การเคลือบโดยวิธีจุ่ม (Immersion)

เนื่องจากเยื่อเซลลูโลสละลายในกรดอะซิติก และไคโตแซนเหลวซึ่งเป็นตัวเคลือบมีกรด 1% ผสมอยู่ ทำให้การจุ่มเยื่อเซลลูโลสลงในไคโตแซนเหลวต้องทำในเวลาอันสั้น มิฉะนั้นจะทำให้เยื่อฐานหดและเสียรูป การศึกษานี้พบว่าเวลาที่เหมาะสมคือ 1 นาที



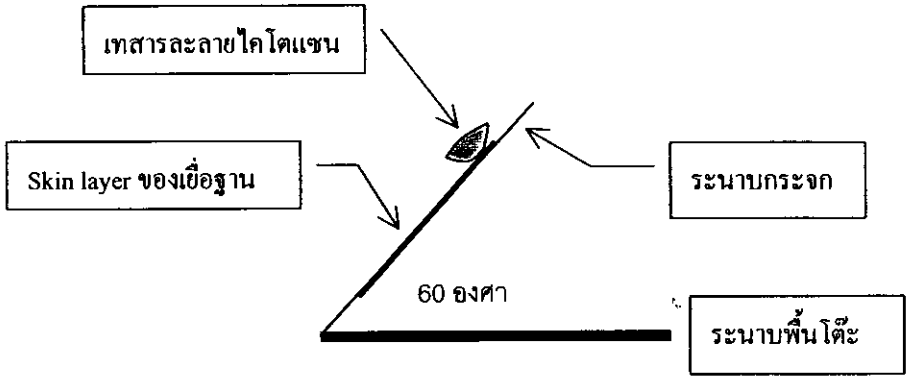
2.1.2.2 การเคลือบโดยวิธีรีด (Slip Casting)

ด้วยการรีดไถลไปบนผิวของเยื่อฐาน ซึ่งต้องใช้สารละลายไคโตแซน 2% เพื่อต้องการใช้ความหนืดให้เป็นประโยชน์ต่องาน อย่างไรก็ดีพบว่าไคโตแซนเหลว 2% นี้ยังหนืดไม่พอที่จะรีดไปบนเยื่อฐานได้ จึงอบไคโตแซนเหลว 2% นี้ที่อุณหภูมิ 43°C นาน 2 ชั่วโมง ก่อนนำไปใช้เคลือบเยื่อฐาน เมื่อเคลือบแล้ว นำไปทำการเปลี่ยนเฟสโดยแช่ในสารละลาย NaOH 4% นาน 15 นาที ซึ่งการแช่นี้จะทำให้เยื่อไคโตแซนที่เคลือบมีสีขุ่นขึ้น หลังจากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้งๆละ 15 นาที โดยปริมาตรเยื่อ:ปริมาตรน้ำกลั่นคือ 1:20,000 และใช้เครื่องเขย่า (Gemmy Industrial Corp. model VRN-200) ที่ปรับอัตราการเขย่าได้ระหว่าง 60-230 รอบต่อนาที หลังจากนั้นนำเยื่อไปวางในที่ปลอดฝุ่นที่อุณหภูมิ 25°C ประมาณ 24 ชั่วโมง เพื่อคอยการทดสอบ



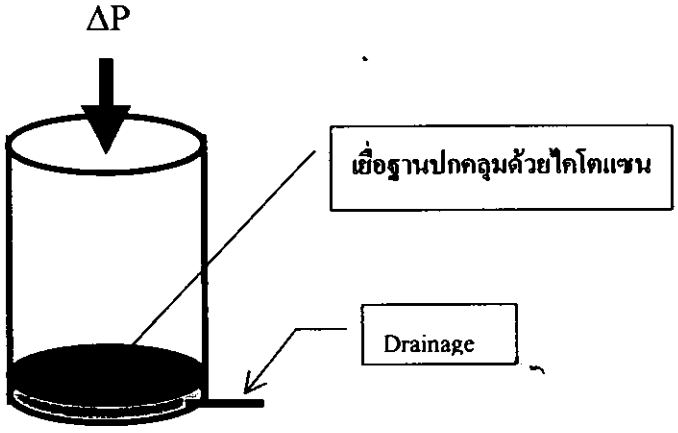
2.1.2.3 การเคลือบโดยวิธีอาศัยแรงโน้มถ่วง

วิธีเคลือบแบบนี้ ทำโดยวางกระจกระนาบบนพื้นเอียงทำมุม 60 องศา กับระนาบพื้นโต๊ะ เทไคโตแซนลงตรงส่วนบนของเยื่อฐาน การไหลของไคโตแซนเคลือบผิวบนของเยื่อฐานใช้แรงกระทำที่สม่ำเสมอโดยอาศัยแรงโน้มถ่วงของโลก หลังจากนั้นนำไปแช่ในสารละลาย NaOH และล้าง ดังวิธีที่กล่าวไว้ข้างต้น



2.1.2.4 การเคลือบโดยวิธีอัดความดัน

ส่วนการเคลือบโดยวิธีการอัดด้วยความดันนั้นเพื่อเพิ่มความพรุนให้แก่เยื่อประกอบเนื่องจากไคโตแซนจะแทรกเข้าไปในรูพรุนของเยื่อฐาน วิธีหลังนี้สิ้นเปลืองไคโตแซนน้อยที่สุด คือใช้สารละลายเข้มข้นเพียง 0.5% ซึ่งไม่หนืดมาก



2.2 การทดสอบการบวมน้ำของเยื่อไคโตแซน

เนื่องจากไคโตแซนเป็นพอลิเมอร์ที่ชอบน้ำ จึงทดลองศึกษาการบวมน้ำของเยื่อไคโตแซนโดยการแช่เยื่อทั้งสองชนิดในน้ำกลั่นเป็นช่วงเวลา แล้วซับน้ำให้แห้งก่อนชั่งน้ำหนัก หาเปอร์เซนต์การบวมน้ำด้วยสมการ

$$\%water = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_1}\right) x100$$

เมื่อ W_1 และ W_2 คือน้ำหนักก่อนและหลังการแช่น้ำที่ช่วงเวลาต่างกัน

2.3 การทดสอบเยื่อประกอบเซลลูโลส/ไคโตซาน

2.3.1 การวัดฟลักซ์น้ำดี

วิธีการวัดฟลักซ์น้ำดี ทำโดยจัดเยื่อบางขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4.7 ซม ลงในระบบทดสอบแบบปิดตาย (ดู Figure 1) ในที่นี้เยื่อบางชุดควบคุมคือ C12 และ C25 ซึ่งเป็นเยื่อเซลลูโลสที่ยังไม่เคลือบไคโตแซน ผลิตโดยใช้ความหนาแน่นของจุลินทรีย์สองระดับคือ $1x10^8$ และ $2x10^8$ เซลล์/มล (ดูวิธีการเพาะเลี้ยงในรายงานเพื่อตีพิมพ์) ส่วนเยื่อประกอบที่ทำการศึกษาต่อไปนี้คือ C12CH และ C25CH ซึ่งเป็นเยื่อเซลลูโลสที่เคลือบไคโตแซนเหลวโดยวิธีจุ่ม

2.3.2 การศึกษาขนาดรูและความพรุน

ถ่ายภาพเยื่อที่เตรียมได้ ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราด โดยบันทึกภาพด้านผิวบน (Skin layer) และผิวล่าง (Sub-layer) ใช้โปรแกรมคอมพิวเตอร์ Carnoy (Lab of Plant Systematics, Belgium) เพื่อศึกษาขนาดรู การกระจาย และความพรุนของรูบนเยื่อบาง

2.4 การเตรียมเยื่อบางไคโตแซนเพื่อศึกษาสมบัติเชิงไฟฟ้า

เตรียมสารละลายไคโตแซน 1% ดังรายละเอียดในข้อ 2.1.1 แล้วเทลงในถาด สเตนเลสขนาด 15x23.5 ซม. แล้วอบที่อุณหภูมิ 43°C นาน 36 ชั่วโมง เทสารละลาย NaOH 4% ให้ท่วมเยื่อไคโตแซน ทิ้งไว้นาน 1 ชั่วโมงเพื่อทำการเปลี่ยนเฟส แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นหลายๆครั้ง จนกระทั่งน้ำที่ล้าง มี pH เป็นกลาง ทิ้งเยื่อให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง และเก็บไว้ในที่ปลอดฝุ่น

ส่วนเยื่อที่ทำการเชื่อมขวาง เตรียมโดยวิธีเดียวกัน โดยละลายกลูตารัลดีไฮด์ 4 กรัมในสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 M (23) แล้วผสมสารละลายนี้ลงในไคโตแซนเหลวให้ได้ความเข้มข้นสุดท้าย 4% ในสารละลายไคโตแซน ก่อนนำไปอบด้วยวิธีดังกล่าวข้างต้น

2.5 การวัดสมบัติทางไฟฟ้าของเยื่อโดยวิธีอิมพีแดนซ์สเปคโตรสโคปี

ทดลองด้วยวิธี Four point probe method (22) โดยจัดให้เยื่อไคโตแซนตรึงอยู่ตรงกลางของ Two chamber system เติมสารละลาย KCl เข้มข้น 0.1 mM ลงในแต่ละช่อง เมื่อต้องการศึกษาผลของระดับพีเอช จึงเติม HCl หรือ NaOH ลงในสารละลาย 0.1 mM นั้น